

Le rôle de facteurs auto-inhibiteurs dans la régénération des Planaires

(Une interprétation nouvelle de la théorie des gradients
physiologiques de CHILD)

par

**Etienne WOLFF¹, Théodore LENDER² et
Catherine ZILLER-SENGEL¹**

Avec 14 figures dans le texte.

La théorie des gradients physiologiques, élaborée par CHILD (1920) a connu, au cours des quarante dernières années, un succès considérable. D'abord appliquée par son auteur aux processus de régénération, cette notion a été étendue par de nombreux biologistes à des phénomènes du développement normal. Les bases physiologiques de cette théorie ont été longuement discutées; mais les notions de gradients, de dominance, ont été confirmées par de nombreuses recherches de morphologie expérimentale. Il ressort de ces données que certains facteurs, actifs dans la morphogénèse, sont répartis d'une manière décroissante le long de certains axes, à partir d'un centre où ils ont leur effet maximum. Cette notion s'est révélée adéquate pour grouper des propriétés communes à beaucoup de phénomènes du développement. Elle est actuellement employée par la plupart des auteurs qui cherchent à donner une explication générale des mécanismes inducteurs qui interviennent

¹ Laboratoire d'Embryologie expérimentale du Collège de France et du CNRS à Nogent-sur-Marne (Seine).

² Laboratoire de Biologie animale de la Faculté des Sciences de Paris (Orsay).

dans l'organisation primaire d'un embryon (DALCQ et PASTEELS 1938, YAMADA 1958, TOIVONEN et SAXÉN 1955).

Ces recherches permettent de supposer qu'il existe des relations quantitatives entre certains facteurs morphogénétiques. Mais celles-ci sont encore mal élucidées.

Nous avons cherché à expliquer d'une manière concrète les phénomènes de dominance et d'inhibition qui se manifestent dans la régénération d'un groupe qui a été le point de départ des recherches de CHILD, les Turbellariés Tricladés. Nous sommes heureux de dédier cette contribution au professeur Fr. BALTZER, dont les remarquables travaux ont élucidé tant de problèmes de morphogénèse, chez les Invertébrés comme chez les Vertébrés.

* * *

L'étude des Planaires d'eau douce douées du pouvoir de régénération totale (*Dugesia lugubris*, *Polycelis nigra*, *Dugesia tigrina*) a permis d'élucider deux catégories de facteurs qui jouent un rôle prépondérant dans la régénération. La morphogénèse des tissus et organes régénérés peut être expliquée par une succession d'inductions et d'inhibitions. Le problème général des inductions a été traité dans des travaux antérieurs (E. WOLFF 1962; E. WOLFF et Th. LENDER 1962).

Nous étudierons ici des mécanismes inhibiteurs qui empêchent qu'un même organe soit plusieurs fois régénéré au cours des processus de reconstitution du corps.

Ces mêmes facteurs empêchent que, dans un organisme intact, les cellules de régénération totipotentes ne forment des organes supplémentaires, à la moindre lésion provoquant un appel de néoblastes.

Des recherches effectuées dans nos laboratoires ont mis en évidence l'existence de substances inhibitrices dans le cas de deux organes précis: le cerveau et le pharynx.

I. ACTION INHIBITRICE DU CERVEAU

Plusieurs auteurs ont montré que le cerveau d'une Planaire exerce une puissante inhibition vis-à-vis de la différenciation d'une

tête supplémentaire greffée dans la région antérieure (RAND et BROWNE 1926, MILLER 1938).

CHEVTCHENKO (1937) a montré que cette activité inhibitrice diminue, lorsqu'une tête est greffée à des distances variables de la région antérieure. Elle est pratiquement nulle, lorsque le greffon est implanté dans la région caudale. De même, chaque zone d'une planaire inhibe puissamment la différenciation d'une région homologue greffée à ce niveau. L'intensité de l'inhibition décroît avec la distance.

L'un de nous (LENDER, 1955, 1956, 1960) a précisé la nature et les conditions de l'inhibition exercée par le cerveau à l'aide d'expériences de greffes et d'extraits de cerveau.

A. GREFFES

Un cerveau est implanté dans la région antérieure de *Dugesia lugubris*.

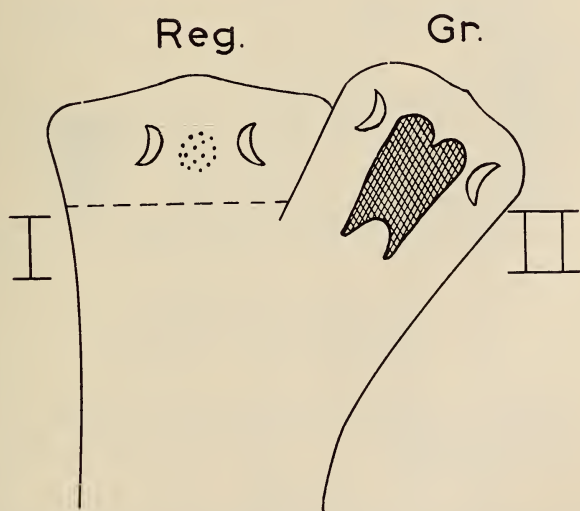


FIG. 1.

Schéma montrant l'inhibition du cerveau d'un régénérat de tête par le cerveau d'un greffon.

Gr. = cerveau greffé (en quadrillé) ayant organisé une tête secondaire II.

Reg. = bourgeon de régénération de tête après une amputation de la tête normale I. Pas de cerveau régénéré; mais amas de néoblastes indifférenciés entre les yeux.

Après décapitation de la Planaire hôte, le greffon peut évoluer de deux façons différentes.

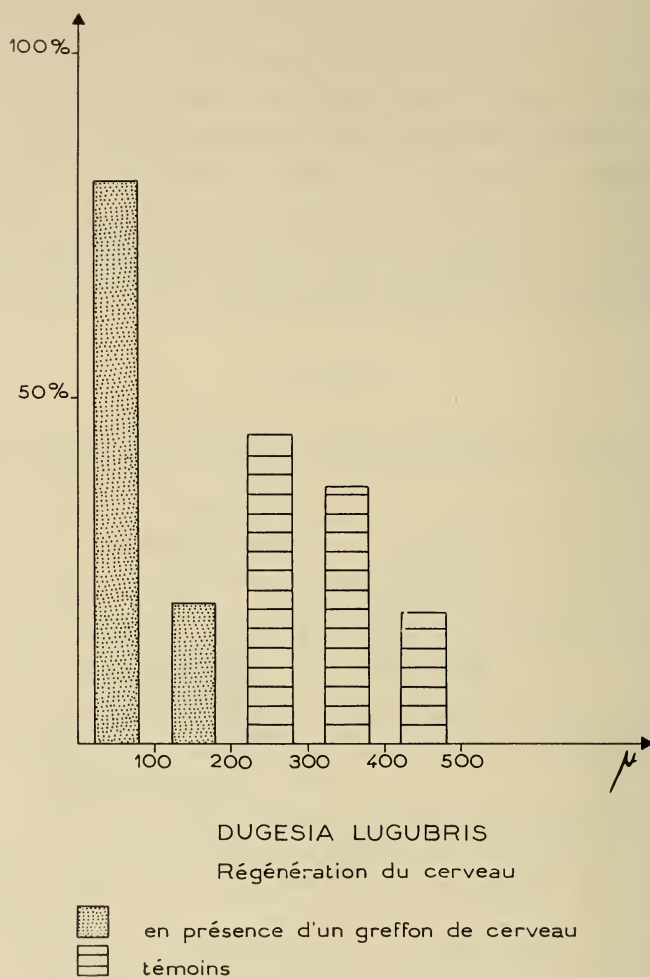


FIG. 2.

Histogramme montrant les classes de répartition des longueurs de cerveau chez les témoins (traits horizontaux) et chez les sujets traités (pointillé) (d'après Th. LENDER 1960).

1. Dans 10 cas, le cerveau greffé devient le cerveau de la tête régénérée. La forme de la tête est normale, et les deux yeux sont reconstitués.

2. Dans 10 autres cas, l'hôte régénère une tête distincte du greffon, autour duquel s'organise une seconde tête. Mais la tête de l'hôte, dans laquelle se différencient des yeux, ne contient pas trace de cerveau (4 cas, fig. 1) ou reconstitue une masse nerveuse peu importante (longueur moyenne: $49\ \mu$, contre $326\ \mu$ chez les témoins) (fig. 2). On trouve une accumulation importante de néoblastes non différenciés, à la place du cerveau, dans les cas où celui-ci n'est pas régénéré. Ce résultat apporte une preuve supplémentaire de l'inhibition exercée par un cerveau différencié sur une ébauche non différenciée de ce même organe.

B. EXTRAITS

Des Planaires *Polycelis nigra*, *Dugesia lugubris* sont privées de cerveau et élevées dans de l'eau contenant des broyats de têtes soit à l'état brut, soit à l'état de surnageant après centrifugation à 10 000 g. L'extrait est utilisé à raison de 20 têtes par récipient de

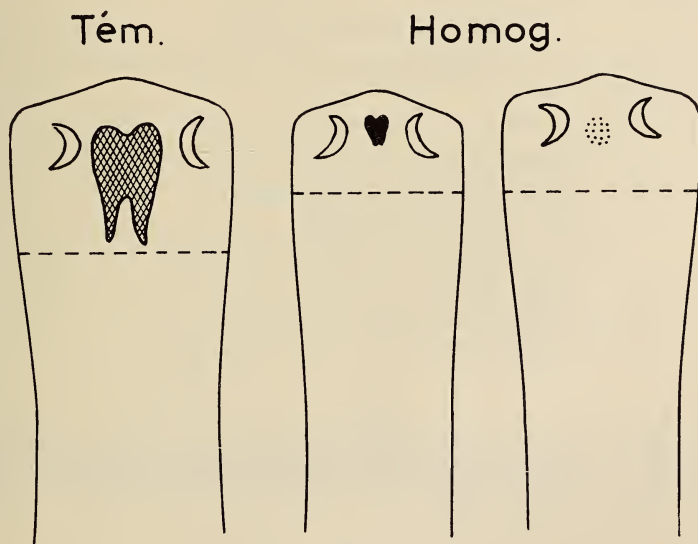


FIG. 3.

Schéma représentant l'action des extraits de tête sur la régénération du cerveau.

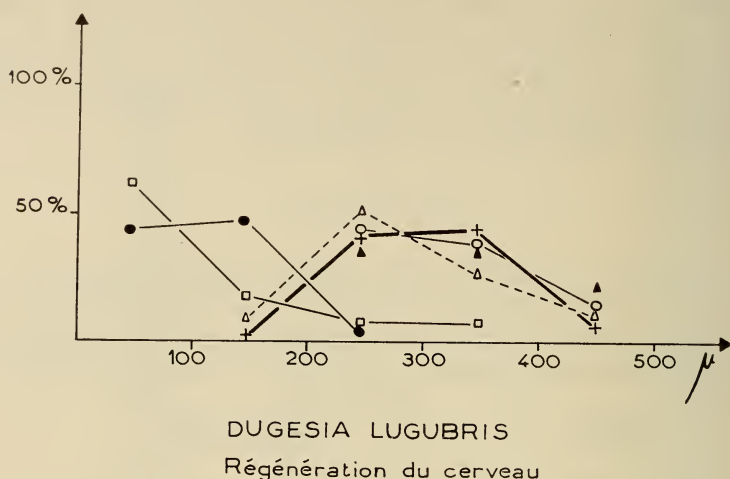
Tém. = témoins: régénération d'un cerveau normal.

Homog. = deux types de résultats de la régénération céphalique après action des extraits.

Au milieu: cerveau très réduit entre 2 yeux normaux.

A droite: pas de cerveau; accumulation de néoblastes indifférenciés entre les deux yeux.

10 ml d'eau. 4 individus opérés sont placés dans chaque récipient. (Pour le détail de l'expérience, voir LENDER 1960). Les témoins sont fournis par des animaux élevés dans les mêmes conditions sans broyats, et par des animaux élevés en présence d'extraits de queue préparés dans les mêmes conditions.



- a/ en présence de broyats de têtes
- broyats bruts
 - surnageant de la centrifugation
 - culot de la centrifugation
- b/ en présence de broyats de queues
- △ broyats bruts
 - ▲ surnageant de la centrifugation
- c/ témoins
- +

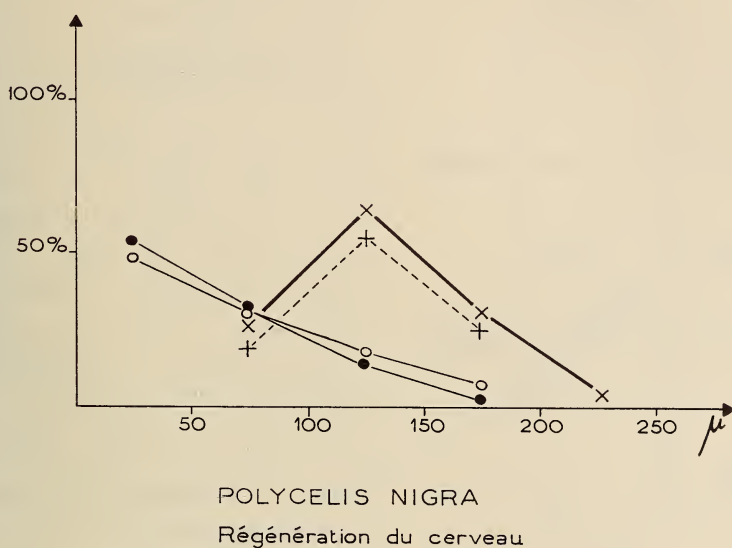
FIG. 4.

Courbes représentant les pourcentages de planaires en fonction des longueurs de cerveaux régénérés chez *Dugesia lugubris*. Les courbes des Planaires traitées par les extraits de tête sont considérablement décalées par rapport aux courbes témoins (non traités et traités par des broyats de queues). (d'après Th. LENDER 1960).

Résumons brièvement les résultats.

Sur 30 Planaires *D. lugubris* mises en présence de l'extrait brut, 5 n'ont pas régénéré de cerveaux, la majorité des autres ne différencient qu'une faible masse de tissu nerveux (97 μ en moyenne) (fig. 3 et 4).

Sur 41 individus de la même espèce mis en présence du liquide surnageant, 7 ne régénèrent pas de tissu nerveux, 34 ont régénéré du tissu nerveux sur une longueur de 20 μ en moyenne. Les témoins non soumis à l'extrait de cerveau régénèrent un cerveau d'une longueur moyenne de 219 μ . Les témoins soumis à des broyats de queue régénèrent, comme les témoins ordinaires, des cerveaux de 309 à 332 μ (fig. 4).



- en présence de broyats bruts de tête
- en présence du surnageant du broyat de tête
- +
- x témoins

FIG. 5.

Mêmes courbes chez *Polycelis nigra*. La diminution de longueur des cerveaux traités est encore très nette. (d'après Th. LENDER 1960).

Des Planaires de l'espèce *Polycelis nigra* soumises au même traitement ont donné des résultats analogues. Un plus grand nombre encore ne régénèrent pas de cerveau (fig. 5).

Ces recherches démontrent que l'inhibition d'un deuxième cerveau est due à une substance diffusible contenue dans la tête greffée, très probablement dans le cerveau lui-même.

II. ACTION INHIBITRICE DE LA RÉGION PHARYNGIENNE

Des recherches récentes de C. ZILLER-SENGEL (résultats inédits) montrent que des extraits de régions pharyngiennes exercent une action inhibitrice sur la régénération du pharynx.

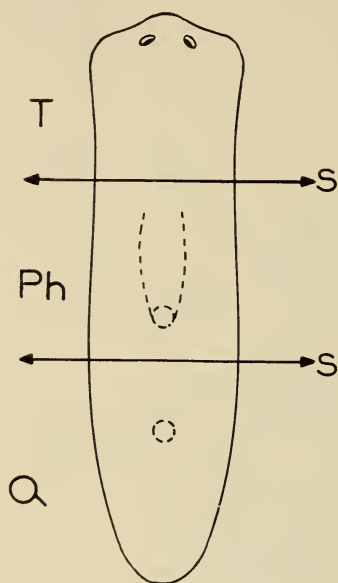


FIG. 6. — Préparation des extraits.

Planaira divisée en trois tronçons.

T. = région céphalique.

Ph. = région pharyngienne.

Q. = région caudale.

S. = niveaux des sections transversales.

Les expériences ont été conduites de la manière suivante: les Planaires donneuses de broyat sont divisées en 3 régions: céphalique, pharyngienne et caudale (fig. 6). Les tronçons de chaque catégorie ont été pesés, après séchage, de manière à obtenir un poids égal de têtes, de régions pharyngiennes et de queues dans chaque catégorie de broyats. Le broyat est centrifugé à 11 000 tours (10 000 g) pendant 10 minutes. Le surnageant est réparti dans des cristallisoirs de 10 à 15 ml d'eau où séjournent 6 à 12 animaux soumis à l'expérience. La quantité d'extrait additionné à l'eau des cristallisoirs correspond à 18 à 30 têtes, régions pharyngiennes ou queues de planaires.

Les Planaires sont soumises à l'action des extraits pendant 12 à 20 jours¹.

A. PREMIÈRES SÉRIES EXPÉRIMENTALES

Animaux d'expérience: *Dugesia lugubris*.

Broyats centrifugés, non filtrés.

¹ Le détail de ces expériences sera donné dans un travail *in extenso* de C. ZILLER-SENGEL.

Des courbes 1 et 2 (fig. 7 et 8), il résulte que les 3 types d'extraits ont une action inhibitrice par rapport aux témoins, mais l'action inhibitrice est beaucoup plus forte dans le cas des extraits pharyngiens. Les différences sont les plus importantes entre le 10^e et le 15^e jour du traitement. Après quoi, les 3 courbes tendent à se rejoindre.

Série ①

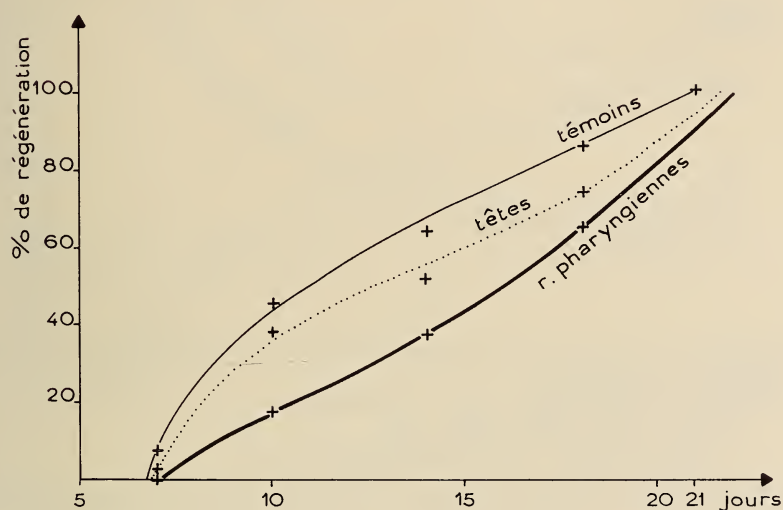
Dugesia lugubris

FIG. 7.

Régénération du pharynx en présence d'extraits non filtrés de têtes et de régions pharyngiennes.

Nombre total d'animaux en fin d'expérience:

- dans l'extrait de têtes, 62;
- dans l'extrait de régions pharyngiennes, 52;
- témoins, 45.

On peut attribuer une partie de l'action inhibitrice à un effet toxique commun aux trois extraits. Cependant le fait que l'extrait pharyngien, provenant d'une même quantité de tissus, est toujours plus inhibiteur que les extraits de tête ou de queues, tend à prouver que la région pharyngienne a une action inhibitrice spécifique.

Série (2)
Dugesia lugubris

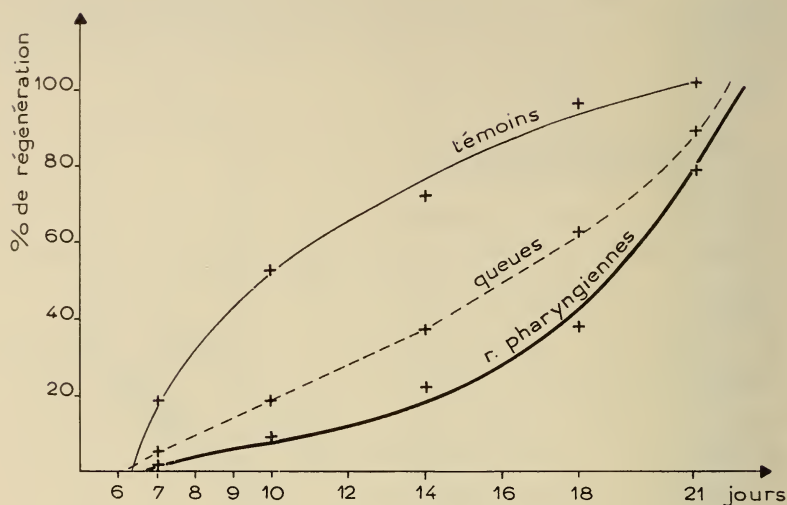


FIG. 8.

Régénération du pharynx en présence d'extraits non filtrés de queues et de régions pharyngiennes.

Nombre total d'animaux en fin d'expérience:

- dans l'extrait de queues, 88;
- dans l'extrait de régions pharyngiennes, 85;
- témoins, 70.

B. NOUVELLES SÉRIES EXPÉRIMENTALES (SÉRIES 3, 4 ET 5)

Afin d'éliminer l'effet toxique des solutions, dû principalement à des pullulations bactériennes, les extraits ont été filtrés sur filtres millipores à pores de $0,45\ \mu$, avant d'être ajoutés aux milieux. Les expériences ont été effectuées sur *Polycelis nigra* et sur *Dugesia tigrina*¹.

La courbe de la fig. 9 donne les résultats obtenus avec *Polycelis nigra*, la courbe de la fig. 10, les résultats obtenus avec *Dugesia tigrina*.

¹ En raison d'une pénurie de planaires *Dugesia lugubris*.

Pour éprouver si l'action inhibitrice est due au pharynx en tant qu'organe ou à la zone pharyngienne qui le contient, on a soumis les animaux en expérience à deux extraits différents de zone pharyngienne: les extraits de régions pharyngiennes totales, les extraits

Série (3)

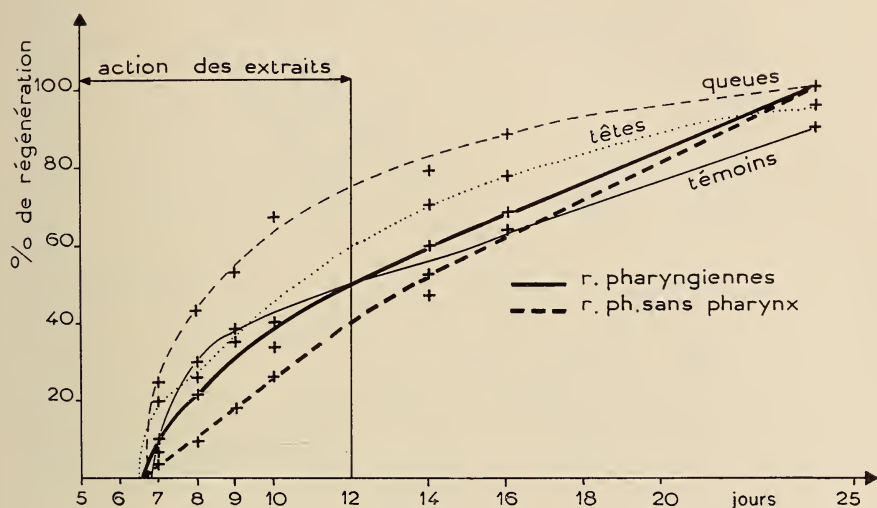
Polycelis nigra

FIG. 9.

Régénération du pharynx en présence d'extraits filtrés de têtes, de queues, de régions pharyngiennes totales et de régions pharyngiennes sans pharynx. Nombre total d'animaux en fin d'expérience :

- dans l'extrait de têtes, 22;
- dans l'extrait de queues, 26;
- dans l'extrait de régions pharyngiennes totales, 19;
- dans l'extrait de régions pharyngiennes sans pharynx, 22;
- témoins, 33.

de régions pharyngiennes sans pharynx. Ceux-ci sont plus actifs que ceux-là (fig. 9 et 10), ce qui semble indiquer que la substance inhibitrice n'est pas contenue dans le pharynx lui-même, mais dans les tissus qui l'avoisinent. Des recherches nouvelles montreront si le pharynx proprement dit est ou n'est pas inhibiteur.

Ces séries expérimentales montrent un fait nouveau: c'est que les extraits de têtes et de queues ont une action stimulatrice par

rapport aux témoins. L'action inhibitrice des extraits pharyngiens totaux est diminuée dans le cas de *Polycelis nigra* (fig. 9), elle reste significative chez *Dugesia tigrina* (fig. 10). Mais l'extrait pharyngien n'a jamais aucun effet stimulateur. Dans les deux cas, en outre,

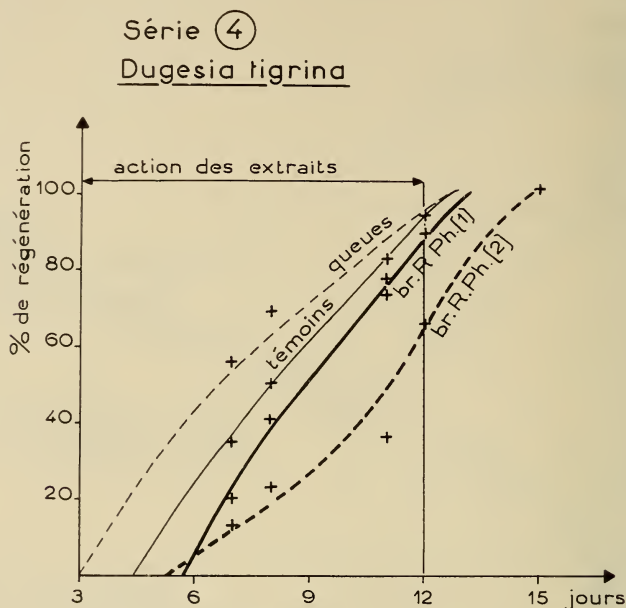


FIG. 10.

Régénération du pharynx en présence d'extraits filtrés de queues, de régions pharyngiennes totales et de régions pharyngiennes sans pharynx.

Nombre total d'animaux en fin d'expérience :

dans l'extrait de queues, 59; dans l'extrait de régions pharyngiennes totales, 59; dans l'extrait de régions pharyngiennes sans pharynx, 38; témoins, 57.

br. R. Ph. (1) = broyat de régions pharyngiennes totales;

br. R. Ph. (2) = broyat de régions pharyngiennes sans pharynx.

l'action *inhibitrice des extraits pharyngiens sans pharynx est très nette*.

On ne peut encore donner une interprétation décisive de ce phénomène. Des expériences sont en cours pour l'expliquer. En ce qui concerne l'effet accélérateur de certains extraits, on peut admettre qu'une substance stimulatrice, ou trophique, existe dans les extraits de tête et de queue. La même substance coexisterait avec une substance inhibitrice dans les extraits de zones pharyn-

giennes. L'effet inhibiteur dominerait nettement l'effet stimulateur dans les extraits de zones pharyngiennes.

L'action stimulatrice des extraits est du reste variable. Elle dépend très vraisemblablement de l'état de nutrition des planaires au moment de l'expérience. Une série nouvelle (série 5, fig. 11) faite avec des extraits de queue n'a plus montré d'effet stimulant;

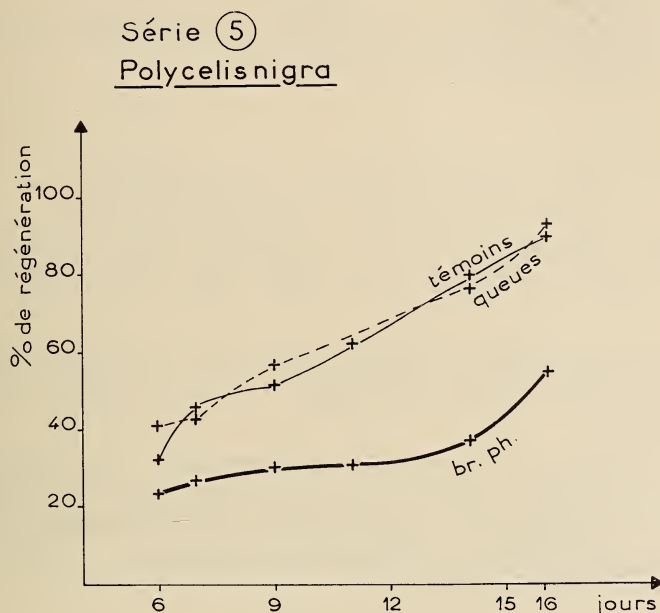


FIG. 11.

Régénération du pharynx en présence d'extraits filtrés de queues et de régions pharyngiennes sans pharynx.

Nombre total d'animaux en fin d'expérience:

- dans l'extrait de queues, 18;
- dans l'extrait de régions pharyngiennes sans pharynx, 33;
- témoins, 35.

br. ph. = broyat de régions pharyngiennes sans pharynx.

mais l'action inhibitrice des extraits de régions pharyngiennes est toujours énergique. Ce résultat tend à confirmer que l'effet stimulateur des extraits de tête et de queues de certaines séries est bien dû à un facteur trophique. Bien que toutes les expériences aient été faites sur des Planaires soumises au jeûne depuis 7 jours, le facteur stimulateur dépend vraisemblablement de l'état de la Planaire au moment de l'expérience.

Peut-on mettre en évidence d'autres actions inhibitrices relatives à d'autres régions des Planaires? Peu d'autres organes sont assez localisés ou assez importants pour se prêter facilement à des expériences. Des recherches sont entreprises dans notre laboratoire sur la régénération de l'appareil copulateur en présence d'extraits de cette région. D'autres pourront être effectuées sur l'appareil testiculaire, sur les yeux.¹

Mais ces recherches présentent certaines difficultés techniques, qui ne sont pas entièrement surmontées.

III. DISCUSSION ET CONCLUSIONS: UNE NOUVELLE INTERPRÉTATION DE LA THÉORIE DES GRADIENTS PHYSIOLOGIQUES DANS LA RÉGÉNÉRATION DES PLANAIRE

Lorsqu'une Planaire régénère un organe manquant, plusieurs conditions sont nécessaires pour que la reconstitution soit complète et normale.

1. L'existence de cellules de régénération (néoblastes), qui, dans les planaires à régénération totale, sont capables de régénérer n'importe quelle partie du corps. Les propriétés et les déplacements de ces cellules ont été étudiés dans notre laboratoire par F. DUBOIS (1949).

2. Des facteurs inducteurs, qui déterminent la qualité de la différenciation. Ces facteurs sont contenus dans les territoires voisins de l'organe à régénérer: cerveau pour les yeux (LENDER 1952); région prépharyngienne pour le pharynx (SANTOS 1929, OKADA et SUGINO 1937, Ph. SENDEL 1953, E. WOLFF, Ph. SENDEL et C. SENDEL 1958, C. SENDEL 1959); la région testiculaire pour l'appareil copulateur, (KENK 1941, OKUGAWA 1957 et FEDEKA-BRUNER (résultats inédits))...

Nous avons développé cette question dans d'autres travaux

¹ PENTZ et SEILERN ASPANG (1961) ont montré chez *Polycelis nigra* que la distance entre deux yeux voisins est constante. Dans cet intervalle on n'observe pas la formation de nouvelles taches oculaires. Si on écarte expérimentalement deux yeux voisins, de nouvelles formations oculaires se différencient. Donc chaque œil serait entouré d'un champ inhibiteur qui détermine l'écartement des yeux.

(1962a et b). Nous donnons ci-joint le schéma qui récapitule les inductions successives démontrées ou présumées dans le cas de la régénération de la région antérieure du corps (fig. 12 et 13a).

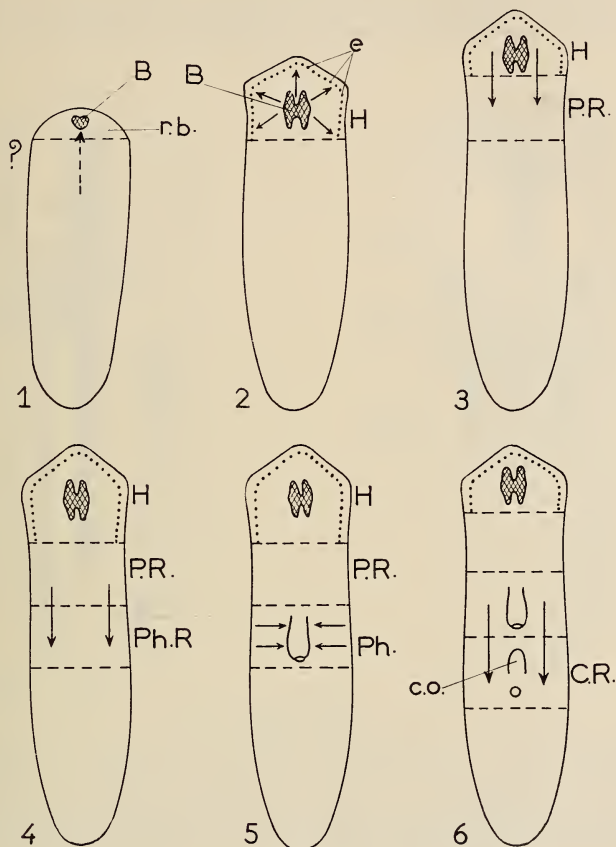


FIG. 12.

Représentation schématique des inductions successives qui interviennent au cours de la régénération antérieure du corps d'une Planaire (de type *Polycelis nigra*).

1. Induction du cerveau par la base;
2. Induction des yeux par le cerveau;
3. Induction de la région prépharyngienne par la tête;
4. Induction de la région pharyngienne par la région prépharyngienne;
5. Induction du pharynx par la zone pharyngienne;
6. Induction des organes copulateurs par les follicules testiculaires contenus dans la région antérieure.

B. = cerveau; c. o. = organes copulateurs; C.R. = région copulatrice;
H. = tête; e = yeux; Ph. R. = région pharyngienne; Ph. = pharynx;
P.R. = région prépharyngienne.
(d'après Et. WOLFF 1962).

3. Des facteurs inhibiteurs qui, au moment où une mutilation est faite à l'organisme, empêchent généralement qu'un organe ou un appareil soit reconstitué en plusieurs exemplaires. Ce sont eux qui empêchent aussi que la régénération ne dépasse les besoins de la réparation. Ces facteurs jouent un rôle important quand on greffe

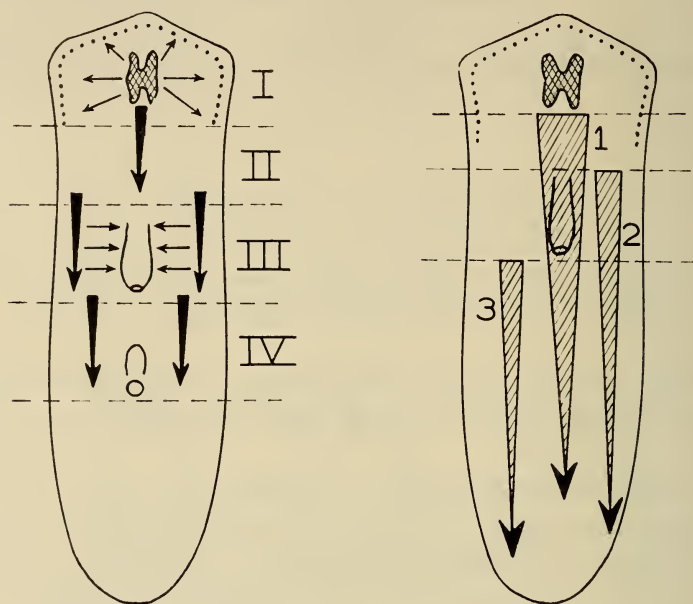


FIG. 13.

- a) Schéma récapitulatif des processus d'induction au cours de la régénération antérieure.
 b) Schéma récapitulatif des processus d'inhibition présumés au cours de la régénération antérieure.
 L'épaisseur des flèches indique l'intensité du gradient d'inhibition. (d'après Et. WOLFF, 1962).

une partie supplémentaire (tête, queue, région pharyngienne) à différents niveaux d'une planaire. Les actions inhibitrices se manifestent toutefois avec plus d'intensité dans les régions proches de l'organe régénéré; à une certaine distance, elles ne peuvent contrecarrer l'action des facteurs inducteurs. C'est ce qu'ont montré les expériences de dédoublement de têtes, de greffes de têtes ou de queues (CHEVTCHENKO 1937, SANTOS 1929).

Nous interprétons ces inhibitions comme résultant de l'action de substances élaborées au niveau de certains organes et diffusant

à travers le corps de la Planaire en quantités d'autant plus faibles qu'on s'éloigne de la région sécrétrice (fig. 13b). Nous avons mis en évidence de telles substances, en préparant des extraits à partir des têtes et des régions pharyngiennes. On peut considérer que les gradients d'inhibition établis par CHILD sont dus en grande partie

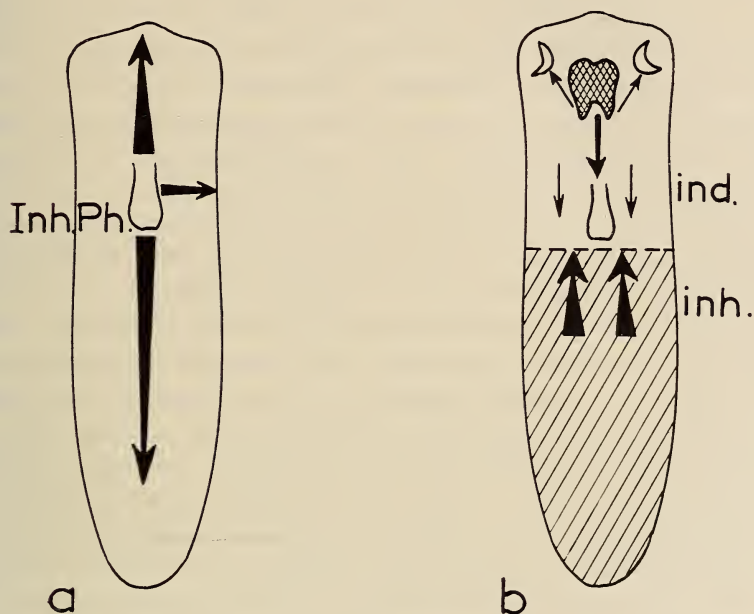


FIG. 14.

- a) Gradients de diffusion de substances inhibitrices à partir du pharynx. Inh. Ph. = inhibition du pharynx.
- b) Antagonisme entre les facteurs inducteurs et les facteurs inhibiteurs, au cours d'une régénération antérieure aux organes copulateurs. De l'équilibre entre ces facteurs résulte la reconstitution d'une planaire normale. ind. = facteurs inducteurs; inh. = facteurs inhibiteurs.

à la diffusion de substances inhibitrices qui sont plus ou moins diluées suivant la distance de la source (fig. 14a). Ainsi les gradients physiologiques seraient dus initialement à des gradients de diffusion de substances actives (WOLFF 1962, WOLFF et LENDER 1962). Les effets métaboliques, tels que gradients d'intensité respiratoire, de réduction, etc..., qui ont été étudiés par CHILD et ses collaborateurs ne seraient que des manifestations secondaires des réactions déclenchées par de telles substances.

La nature de ces substances reste entièrement à élucider. Il convenait dans un premier temps d'en démontrer l'existence. Nous pensons toutefois avoir apporté une contribution à la compréhension des mécanismes de la régénération et à la théorie si séduisante et si discutée de CHILD.

Remarquons enfin que le schéma et l'ordre des processus de la reconstitution réparatrice sont un peu différents des mécanismes généralement admis dans d'autres groupes animaux (par ex. chez les Amphibiens). Ces différences concernent le rôle de la partie restante (ou « base ») du corps. On admet généralement que celle-ci joue un rôle organisateur dans la différenciation du régénérat, sans que ce rôle ait d'ailleurs été nettement défini.

En ce qui concerne les Planaires, la base joue certainement un rôle primordial dans la détermination de la polarité du régénérat. C'est elle qui donne au régénérat sa qualité « antérieure » ou « postérieure ». Ce fait a été confirmé par l'un de nous (C. SENDEL 1960) dans les expériences de cultures de bourgeons de régénération. S'il s'agit d'un régénérat antérieur se reconstituant à partir d'une queue, le premier organe qui se différencie est le cerveau. On peut admettre que cette différenciation est induite par la base. Mais à partir de ce moment, la suite des processus de reconstitution est indépendante de la base. Ainsi que nous l'avons démontré dans des travaux antérieurs (voir plus haut p. 000), les inductions successives se font du cerveau vers la base, et c'est à l'intérieur même du régénérat que les facteurs inducteurs doivent être recherchés. Ainsi, la régénération se fait par appositions successives d'organes, de la région antérieure vers la région postérieure. La base intervient à nouveau pour mettre un terme à la morphogénèse régénératrice, en imposant un veto aux inductions qui tendraient à reproduire des parties déjà existantes. C'est à ce moment que les substances inhibitrices dont traite cet article jouent un rôle prépondérant, en contrecarrant la tendance à la reconstruction totale du régénérat. Le schéma de la fig. 14*b* représente l'équilibre qui s'établit entre les facteurs inducteurs et les facteurs inhibiteurs. En résumé, la « base » ne paraît jouer un rôle actif qu'au début et à la fin des processus de régénération: au début, en imposant au régénérat sa polarité et sa qualité; à la fin, en arrêtant les processus de régénération au moment où ils tendraient à dépasser leur but.

Nous proposons l'hypothèse de la formation et de la diffusion de substances inhibitrices comme une explication générale plausible des phénomènes de *dominance* et des gradients physiologiques au cours de la régénération des planaires. Cette hypothèse peut aussi s'appliquer à des processus du développement normal, dans lesquels des facteurs inhibiteurs s'opposent à l'expression des potentialités multiples de certaines ébauches embryonnaires.

Ces notions trouvent ainsi une explication concrète, fondée sur la concentration des substances inhibitrices, qui sont diffusées à partir d'un centre ou d'un territoire formateurs. Nous soulignons que, dans le cas des Planaires d'eau douce, l'existence de telles substances est démontrée dans le cas de deux des régions essentielles et les mieux caractérisées de l'organisme: la tête et la région pharyngienne. Elle est soupçonnée, mais non démontrée, dans le cas d'autres organes ou régions du corps. Bien qu'il soit difficile d'effectuer des expériences analogues sur des organes comme les yeux ou l'appareil copulateur, nous espérons que de nouvelles recherches viendront confirmer notre hypothèse.

Nous sommes conscients que certains faits connus paraissent ne pas entrer dans le cadre de la théorie. Nous en citerons deux exemples. Dans les expériences de SANTOS, reprises et complétées par OKADA et SUGINO, puis par Ph. SENDEL, un pharynx supplémentaire peut être induit dans la région caudale par la greffe d'une tête. Pourquoi la substance inhibitrice du pharynx n'agit-elle pas dans cette région? On peut admettre que, par l'effet du gradient de diffusion, la concentration de cette substance est trop faible dans cette zone pour s'opposer à l'action d'une puissante substance inductrice qui normalement n'existe pas à ce niveau.

D'autre part, la théorie peut paraître ne pas s'appliquer aux cas d'hétéromorphose, où une étroite zone, isolée par deux sections, peut régénérer une tête à ses deux extrémités. C'est encore ce qui se produit, lorsqu'une tête, sectionnée immédiatement en arrière des yeux, commence par régénérer des yeux au niveau de cette section, ou lorsque des substances chimiques, telles la déméclocine, provoquent une inversion de polarité au niveau d'une section postérieure. Ces exceptions apparentes peuvent s'expliquer par le fait qu'il n'y a pas encore de substance inhibitrice de tête dans le fragment (premier cas), qu'elle est contrariée par l'intensité des inductions dans un territoire compétent (deuxième cas) ou que sa

sécrétion est affaiblie par ces substances toxiques (troisième cas). Mais ce sont là des explications théoriques; elles montrent qu'on peut trouver une solution à des exceptions apparentes, mais elles n'ont de valeur que si elles sont démontrées expérimentalement.

Nous pensons que notre hypothèse peut cependant donner une explication valable de la plupart des faits connus, qu'elle pourra être confirmée par de nouvelles recherches sur les Planaires et étendue à d'autres organismes. Nous devons souligner que, dès maintenant, elle est appuyée par d'importantes recherches de ROSE et de ses collaborateurs sur la régénération des Tubulaires (1955, 1957) des Némertes et des Annélides Polychètes (résultats inédits), et par les travaux de divers auteurs (ROSE 1955 et LÉNIQUE 1961) sur l'influence inhibitrice d'extraits d'organes sur le développement des ébauches correspondantes, au cours du développement des Vertébrés.

RÉSUMÉ

1. L'effet inhibiteur d'extraits d'organes au cours de la régénération de Planaires d'eau douce (*Dugesia lugubris*, *Polycelis nigra*, *Dugesia tigrina*) a été démontré dans le cas de deux régions du corps: la tête et la région pharyngienne.

2. Des greffes de cerveau ou des extraits de tête empêchent ou retardent la reconstitution du cerveau dans un régénérat antérieur de tête (fig. 1 et 3). Le liquide surnageant des extraits centrifugés a le même effet inhibiteur que l'extrait total. Les extraits de queue n'ont aucune action retardatrice sur la régénération de la tête.

3. Le surnageant d'extraits de régions pharyngiennes exerce une inhibition spécifique sur la régénération du pharynx, après extirpation de cet organe (fig. 10 et 11). Ni les extraits de tête, ni les extraits de queue n'ont d'action inhibitrice spécifique sur la régénération du pharynx; ils ont au contraire, dans certaines expériences, une action accélératrice sur ce processus (fig. 9 et 10).

4. Les auteurs formulent l'hypothèse que des substances inhibitrices spécifiques, émancées d'un organe ou d'une région, empêchent que cet organe ou cette région puisse être édifié plusieurs fois, au cours des processus de régénération. Ce sont elles qui limitent la régénération à la reconstitution de la partie manquante.

5. La régénération des parties manquantes d'une Planaire est due à une série d'inductions et d'inhibitions (fig. 13 et 14a), entre lesquelles s'établit un équilibre. Dans le cas de la régénération antérieure, une succession d'inductions en chaîne se produit d'abord en direction céphalo-caudale (cerveau, yeux, région prépharyngienne, pharynx, appareil copulateur) (fig. 13a). Elle s'arrête sous l'influence de facteurs antagonistes émanés de la partie restante et dirigés en sens inverse (fig. 14b).

6. La théorie des gradients axiaux et la notion de dominance (CHILD) peuvent être expliqués par la diffusion de substances inhibitrices spécifiques à partir d'un centre où elles ont leur concentration maximum, vers les régions éloignées où leur concentration est minimum (fig. 14a).

ZUSAMMENFASSUNG

1. Es wurde die Hemmwirkung von Extrakten der Kopf- und Pharynxregion auf die Regeneration bei Süßwasserplanarien (*Dugesia lugubris*, *Polycelis nigra*, *Dugesia tigrina*) nachgewiesen.

2. Verpflanzung von Gehirn oder Extrakte der Kopfregion unterdrücken oder verzögern die Regeneration eines Gehirns in einem vorderen Kopfblastem (Abb. 1 und 3). Der Ueberstand von zentrifugierten Extrakten zeigt die gleiche Wirkung wie Total-extrakt. Schwanzextrakte verzögern die Kopfregeneration nicht.

3. Der Ueberstand von Extrakten der Pharynxregion hemmt die Regeneration der Pharynxregion nach deren Entfernung spezifisch (Abb. 10 und 11). Weder Kopf- noch Schwanzextrakte zeigen eine solche spezifische Hemmwirkung auf die Pharynxregeneration; einzelne Experimente ergaben im Gegenteil eine gewisse Förderung dieses Prozesses (Abb. 9 und 10).

4. Die Verff. entwickeln folgende Hypothese: spezifische Hemmstoffe werden in regenerierenden Organen oder Körperteilen gebildet und verhindern, dass gleiche Organe bzw. Körperteile mehrmals regeneriert werden. Auf diese Weise bleibt der Regenerationsprozess auf die fehlenden Teile beschränkt.

5. Die Regeneration fehlender Körperteile bei Planarien beruht auf einer balancierten Folge von Induktions- und Hemmwirkungen

(Abb. 13 und 14). Im Falle der Regeneration des Vorderkörpers wird vermutet, dass eine Folge von Induktionswirkungen, vom Kopf zum Schwanz (Gehirn, Augen, Pharynxregion, Pharynx, Copulationsorgan) abläuft; diese werden gesteuert durch antagonistisch wirkende Faktoren, welche in den verbleibenden Körperteilen vorhanden sind und eine entgegengesetzte Wirkung entfalten (Abb. 14b).

6. Die Theorie der Axialgradienten (*Child*) lässt sich erklären durch die Annahme von spezifischen Hemmstoffen, deren Konzentration von einem Zentrum aus allmählich abnimmt (Abb. 14a).

SUMMARY

1. The inhibitory effect of organ extracts during the regeneration of fresh water planarians (*Dugesia lugubris*, *Polycelis nigra*, *Dugesia tigrina*) has been demonstrated for two regions of the body: the head and the pharyngeal region.

2. Graft of brain, or head extracts prevent or delay the regeneration of the brain in an anterior head blastema (fig. 1 and 3). The supernatant of the centrifuged extracts has the same effect as the whole extract. The tail extracts do not delay the regeneration of the head.

3. The supernatant of extracts of the pharyngeal region has a specific inhibitory effect on the regeneration of the pharynx, after this organ has been excised (fig. 10 and 11). Neither the head extracts, nor the tail extracts have such specific inhibitory action on the regeneration of the pharynx; on the contrary, in some experiments, they have an entrancing action on this process (fig. 9 and 10).

4. The authors formulate following hypothesis: specific inhibitory substances are produced by a regenerating organ or region, and prevent this organ or this region from being regenerated several times. Thus the regeneration is restricted to the reconstruction of the missing part.

5. The regeneration of the missing parts of a planarian results from a balanced succession of inductions and inhibitions (fig. 13 and 14). In the case of the anterior regeneration, a sequence of

inductions proceeding from the head towards the tail (brain, eyes, pharyngeal region, pharynx, copulatory apparatus) (fig. 13a) is controlled by antagonistic factors which are present in the remaining part and which act in the opposite direction (fig. 14b).

6. The theory of axial gradients (Child) and the concept of dominance can be explained by the presence of specific inhibitory substances which diffuse from a center where their concentration is maximum, to distant regions where their concentration is minimum (fig. 14a).

BIBLIOGRAPHIE

- CHEVTCHENKO, N. N. 1937. *Die Wechselwirkung von Teilen von verschiedener physiologischer Aktivität bei Planarien*. Biol. Z. 6: 581-587.
- CHILD, C. M. 1920. *Some consideration concerning the nature and origin of physiological gradients*. Biol. Bull. 39: 147-187.
- DALCQ, A. et PASTEELS, J. 1938. *Potentiel morphogénétique, régulation et « axial gradients » de Child. Mise au point des bases physiologiques de la morphogénèse*. Bull. Acad. Roy. Méd. Belg. 6^e série, 3: 261-308.
- DUBOIS, F. 1949. *Contribution à l'étude de la migration des cellules de régénération chez les Planaires dulcicoles*. Bull. Biol. Fr. Belg. 83: 215-284.
- KENK, R. 1941. *Induction of sexuality in the asexual form of Dugesia tigrina (Girard)*. J. exp. Zool. 87: 55-69.
- LENDER, Th. 1952. *Le rôle inducteur du cerveau dans la régénération des yeux d'une Planaire d'eau douce*. Bull. Biol. Fr. Belg. 86: 140-215.
- 1955. *Sur l'inhibition de la régénération du cerveau de la Planaire Polycelis nigra*. C.R. Acad. Sc. 241: 1863-1865.
- 1956. *L'inhibition de la régénération du cerveau des Planaires Polycelis nigra (Ehrb.) et Dugesia lugubris (O. Schm.) en présence de broyats de têtes ou de queues*. Bull. Soc. Zool. Fr. 81: 192-199.
- 1960. *L'inhibition spécifique de la différenciation du cerveau des Planaires d'eau douce en régénération*. J. Embryol. exp. Morph. 8: 291-301.
- MILLER, J. A. 1938. *Studies on heteroplastic transplantation in triclad s*. I. *Cephalic grafts between Euplanaria dorotocephala et E. tigrina*. Physiol. Zool. 11: 214-248.
- OKADA, Y. K. et SUGINO, H. 1937. *Transplantation experiments in Planaria gonocephala Dugès*. Jap. Journ. Zool. 7: 373-439.

- OKUGAWA, K. I. 1957. *An experimental study of sexual induction in the asexual form of japanese fresh-water planarian, Dugesia gonocephala Dugès*. Bull. Kyoto Gakugei Univ. Sér. B, 11: 8-27.
- PENTZ, S. et SEILERN-ASPANG, F. 1961. *Die Entstehung des Augenmusters bei Polycelis nigra durch Wechselwirkung zwischen dem Augenhemmfeld und der Augeninduktion durch das Gehirn*. Roux' Arch. f. Entw. Mech. T. 153, pp. 75-92.
- RAND, H. W. and BROWNE, A. 1926. *Inhibition of regeneration in planarians by grafting; technique of grafting*. Proc. Nat. Acad. Sc. Wash. 12: 575-581.
- ROSE, S. M. 1955. *Specific inhibition during differentiation*. Ann. N.Y. Acad. of Sci. 60: 1136-1159.
- 1957. *Cellular interaction during differentiation*. Biol. Reviews. 32: 351-382.
- 1957. *Polarized inhibitory effects during regeneration in Tubularia*. J. Morph. 100: 187-206.
- and ROSE, F. C. 1961. *Growth-Controlling exudates of tadpoles*. Symposia of the Sty. for exp. Biology. XV. Mechanisms in Biological Competition. 207-218.
- SANTOS, F. V. 1929. *Studies on transplantations in Planaria*. Biol. Bull. 57: 188-198.
- SENGEL, C. 1959. *La région caudale d'une Planaire est-elle capable d'induire la régénération d'un pharynx ?* J. Embryol. exp. Morph. 7: 73-85.
- 1960. *Culture in vitro de blastèmes de régénération de Planaires*. J. Embryol. exp. Morph. 8: 468-476.
- SENGEL, Ph. 1953. *Sur l'induction d'une zone pharyngienne chez la Planaire d'eau douce Dugesia lugubris O. Schm.* Arch. Anat. micr. Morph. exp. 42: 57-66.
- TOIVONEN, S. und SAXEN L. 1955. *Über die Induktion des Neuralrohrs bei Triturus-Keimen als simultane Leistung des Leber- und Knochenmarkgewebes vom Meerschweinchen*. Ann. Acad. Sci. Fenn. A. IV Biologica, 30: 1-30.
- WOLFF, Et. 1962. *Recent researches on the regeneration of Planaria*. In « Regeneration » 20th Growth Symposium, The Ronald Press Company, 53-84.
- et LENDER, Th. 1962. *Les néoblastes et les phénomènes d'induction et d'inhibition dans la régénération des Planaires*. Ann. biol. 1: 499-529.
- SENGEL, Ph. et SENGEL, C. 1958. *La région caudale d'une Planaire est-elle capable d'induire la régénération d'un pharynx ?* C.R. Acad. Sc. 246: 1744-1746.
- YAMADA, T. 1958. *Embryonic induction*. In « A Symposium on the Chemical Basis of Development ». W. McElroy and B. Glass eds. 217-238.